生物炭施用對蘿蔓萵苣生長、土壤理化性質及土壤微生物之影響

林素禎[1,*]、彭聖宸[2]、林姿君[3]、張耀聰[4]

摘要

生物炭已被廣泛運用作為土壤添加劑，但生物炭仍有負面影響之報導，本文探討生物炭施用後對蘿蔓萵苣生長、土壤理化性質與土壤微生物群落組成及多樣性之影響。本試驗於 2018 年 3 月進行。試驗地點在高雄區農業改良場，試驗作物為蘿蔓萵苣，生物炭種類為木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭，生物炭施用量每公頃 20 噸。田間試驗主要由高雄區農業改良場規劃管理，農試所負責在蘿蔓萵苣種植前與採收後檢測土壤之理化性質與分析土壤之微生物群落組成及多樣性。試驗結果顯示：(1) 施用木炭可增加蘿蔓萵苣產量 24%，而施用稻穀燻炭與稻穀炭灰會降低蘿蔓萵苣產量，分別降低產量 29%與 60%。(2) 施用木炭及稻殼灰炭可提高土壤 pH 值。(3) 施用木炭、稻殼燻碳及稻殼灰炭皆可提高土壤有效性鉀含量。(4) 施用木炭可顯著降低有效性鐵與銅含量。(5) 施用木炭、稻殼燻碳及稻殼灰炭可降低土壤 DNA 含量。(6) 施用木炭可顯著提高底土微生物碳源的利用率。(7) 施用木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭可降低土壤總細菌數、游離性固氮菌數及溶磷菌數。(8) 施用稻殼燻炭與稻殼灰炭可提高子囊菌的數量。

關鍵字：生物炭、蘿蔓萵苣、土壤理化性質、生物多樣性

前言

生物炭是一種土壤改良劑，具有改良退化土壤的健康與肥力之潛力。這些效益來自於增進土壤團粒，增加土壤的飽水能力，改良土壤的碳含量，以及提升植

[*] 通訊作者：linmay@tari.gov.tw

[1] 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣 台中市。

[2] 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣 台中市。

[3] 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣 台中市。

[4] 農委會高雄區農業改良場副研究員。台灣 屏東縣。

物可吸收的養分與植物的生質量等 (Biederman & Harpole 2013)。生物炭可控制土壤病害、可做為微生物菌劑之載體、可吸附毒素；在大部分的研究中，生物炭的添加可增加微生物生物量(biomass)、改變微生物群落組成及酵素活性；有些研究指出，生物炭的添加會降低叢枝菌根菌的數量 (Lehmann *et al*. 2011)。在沙漠土壤中添加棉花秸稈生物炭 (4.5 t ha^{-1})，可增加細菌與放線菌族群、增加微生物生物量、增加磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid) 的濃度、增加碳基質的利用及酵素的活性(Liao *et al*. 2016)。

雖然生物炭已被廣泛運用作為土壤添加劑，但生物炭仍有負面影響之報導，例如：降低土壤團粒結構 (Kelly *et al*. 2015)，減少土壤中有益微生物 (Busscher *et al*. 2011)，降低作物產量 (Deenik *et al*. 2010) 等，這些報導指出，同一種生物炭無法適合所有的土壤類型。本文探討台灣地區常用的三種農用生物炭(木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭)施用後對蘿蔓萵苣生長、土壤理化性質、土壤微生物群落組成及多樣性之影響。

材料與方法

田區規劃與試驗處理：本試驗主要由高雄區農業改良場負責田區規劃及管理，而農業試驗所負責在蘿蔓萵苣種植前與採收後檢測土壤理化性質與分析土壤之微生物群落組成及多樣性。試驗地點在高雄區農業改良場，試驗田區面積為 100 m^2，試驗處理為：(1) 對照組，不施用生物炭，(2) 施用木炭，(3) 施用稻殼燻炭，(4) 施用稻殼灰炭，每種生物炭施用量皆為 20 Mg ha^{-1}。每處理各有 3 畦，每畦各種 5 行蘿蔓萵苣，種植行株距為 20 cm × 20 cm。

試驗作物：試驗作物為蘿蔓萵苣(*Lactuca sativa*)，一年生草本植物，發芽適溫為 15–25℃，生長適溫為 15–30℃，植株株形直立，葉片鮮綠有光澤。種子購自農友種苗公司，以 128 孔穴盤育苗，育苗 14 d 後移植至田間種植，定植 35 d 後採收，調查產量。

生物炭理化性質分析：生物炭種類有木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭。木炭為高雄區農業改良場行道樹修剪後之枝條經該場場區內之高溫爐 500–600℃燒製而成。稻殼燻炭與稻殼灰炭外購而得。生物炭之酸鹼度(pH 值)、電導度(EC 值)測定方法為生物炭與水重量比 1:5，以酸鹼度測定儀及電導度測定儀檢測之。生物炭之

全碳含量與全氮含量以元素分析儀檢測。有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳含量以二酸(硝酸與過氯酸)分解後，以感應耦合電漿分析儀 (Inductively coupled plasma spectrometry，ICP) 測定。生物炭之鈉含量以 0.1N HCl 抽出後，以 ICP 測定。重金屬銅、鋅、鎘、鉻、鎳、鉛、砷、汞含量以微波消化法檢測。生物炭的重金屬含量由農業試驗所檢測，其他理化性質分析則由高雄區農業改良場檢測。

生物炭施用對土壤理化性質之影響：蘿蔓萵苣種植前，先施用生物炭，生物炭灑施後進行耕犁做畦，在耕犁 2 天後進行土壤取樣，並在蘿蔓萵苣採收後亦進行土壤樣品取樣，土壤樣品陰乾後進行理化性質分析，土壤理化性質包括土壤 pH 值、EC 值、質地、有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅與硼含量。土壤 pH 值測定方法為土水重量比 1 : 1，EC 值測定方法為土水重量比 1 : 5，以酸鹼度測定儀及電導度測定儀檢測之。土壤質地以粒徑分析儀分析。有機質以總有機碳分析儀測定後換算為有機質含量。無機態氮含量先用 2M KCl 抽出後以自動分析儀測定。有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅、硼含量以 Mehlich–3 method 抽出後，以感應耦合電漿分析儀 (Inductively coupled plasma spectrometry，ICP) 測定。每一試驗處理採 3 點，每一點採表土 (0-20 cm) 與底土 (20-40 cm) 兩層土壤進行上述理化性質分析。

生物炭施用對土壤微生物 DNA 總量之影響：秤取 10 g 新鮮土壤樣品測定土壤水分含量，接著以商品化 DNA 萃取試劑組(DNeasy® PowerSoil® Kit)抽取新鮮土壤樣品 DNA，土壤 DNA 萃取方法如下：秤取 0.25 g 已過篩 (網篩口徑 0.5mm)新鮮土壤樣品，加入 PowerBead Tubes 中，輕輕的上下混合均勻。檢查 Solution C1 是否有沉澱物，如有沉澱物，將 Solution C1 放置 60℃水浴槽中，直到沉澱完全溶解，並混合均勻。加入 60 µL Solution C1 於 PowerBead Tubes 中，輕輕的上下混合均勻。固定 PowerBead Tubes 於水平式震盪懸浮器上（VORTEX-GENIE 2），震盪 20 min。將 PowerBead Tubes 放置 55℃水浴槽中 15 min，每 5 min 上下搖晃 10 次混勻。在室溫下，10,000×*g* 離心 2 min。吸取全部的上清液至新的 2 mL Collection Tube，加入 250 µL 的 Solution C2，並懸浮震盪 5 s 後，放置在 4℃冰浴 5 min。室溫下，10,000×*g* 離心 1 min。吸取全部的上層液至新的 2 mL Collection Tube。加入 200 µL Solution C3，並短暫的懸浮震盪，再放置 4℃冰浴 5 min。室溫下，10,000×*g* 離心 2 min。避免吸到雜質，僅吸取 750 µL 的上層液至新的 2 mL Collection Tube。

Solution C4 使用前先混合均勻。混勻後，加入 1200 µL Solution C4 於上層液中，並上下來回搖均勻。將 Spin Filter 置於新的 2 mL Collection Tube 上，再取大約 650 µL 的上層液加到 Spin Filter 上，於室溫下以 10,000×*g* 離心 1 min。離心後，將離心後的下層液倒掉，再重複本步驟 2–3 次，直到加有 Solution C4 的上層液全過濾完畢。再將空管離心一次。加入 500 µL Solution C5，緩慢加入 Spin Filter 上，靜置 1 min。再於室溫下，以 10,000×*g* 離心 1 min。離心後，丟棄下層液。再次離心，室溫下，10,000×*g* 離心 1 min。小心將 Spin Filter 移至新的 2 mL Collection Tube 上，並避免任何 Solution C5 再度噴濺到 Spin Filter 上。於 55℃烘箱乾燥 2 min。吸取 100 µL Solution C6 液體，從 Spin Filter 中央緩緩加入。於 55℃烘箱中加溫 5 min。室溫下，10,000×*g* 離心 1 min。捨棄 Spin Filter，此時 DNA 溶於下層液，接著以超微量核酸偵測儀(Thermo Scientific，NanoDrop One)檢測土壤 DNA 濃度。

以 Biolog EcoPlate^{TM} 進行微生物菌相檢測，探討生物炭施用對土壤微生物碳源的利用率及土壤微生物功能多樣性之影響(Insam 1997；Insam & Goberna 2004)：美國 Biolog 公司生產的微孔盤(microplate)是目前微生物群落多樣性研究的主流方法，可快速分析微生物群落功能性歧異度，得到微生物群落層級生理學分析(Community Level Physiological Profiling，CLPP)。每個 Biolog EcoPlate^{TM} 共有 96 個樣品槽，每 32 個樣品槽為 1 重複，共有 3 重複，包括 1 個空白對照與 31 種碳源。Biolog Ecoplate^{TM} 微生物菌相檢測方法如下：配製無菌生理食鹽水溶液，在 250 mL 三角瓶中加入 95 mL 0.85% NaCl 溶液，以 121℃、1.2 kg cm^{-2} 高溫高壓滅菌 20 min，取出放涼至室溫。秤取 10 g 已過篩 (網篩孔徑 2 mm) 新鮮土壤樣品，倒入上述配製的三角瓶中，並在三角瓶中加入約 20 顆已滅菌直徑 3 mm 玻璃珠。三角瓶以 200 rpm 震盪 60 min 後，儘速進行連續稀釋，避免土壤溶液沉澱。吸取 1 mL 土壤懸浮液加入裝有 9 mL 0.85% NaCl 無菌溶液試管中，充分震盪混合均勻，此為 10^{-2} 稀釋度的土壤溶液。按上述方法繼續稀釋，得 10^{-3} 稀釋度的土壤溶液。10^{-3} 稀釋度的土壤溶液混合均勻以濾紙 (whatman no.1) 過濾，濾液以無菌塑膠培養皿盛裝，方便 8 爪分注器吸取，接種一盤 Ecoplate microplate 約需要 20 mL 濾液。在每一個 Ecoplate 的 well 中，注入 130 µL 10^{-3} 稀釋度之土壤溶液濾液，將 Ecoplate 置於 25℃恆溫箱黑暗培養，以酵素免疫分析儀(Chromate model 4300 microplate reader)在 590 nm 及 750 nm 波長下測定吸光值(OD)，並將 OD_{590} 扣掉 OD_{750} (Wang

et al. 2007)，每 24h 測定一次，直到 120 h。土壤微生物碳源的利用率以 AWCD(average well colour development)表示，土壤微生物多樣性以 Shannon's diversity index(H index)表示，其計算式依序如下：

(1) AWCD (average well colour development) = $\sum_{i=1}^{n}\frac{ODi}{n}$

ODi 為每個時間點下該 well 的 OD_{590}-OD_{750} 讀值，經過扣除空白及三重複平均後的值。

n 為碳源數，Ecoplate 共有 31 種碳源。

(2) Shannon's diversity index (H index) = $-\sum Pi(lnPi)$

Pi 為(正反應 OD 值) / (∑正反應 OD 值)，OD > 0.25 為正反應

生物炭施用對可培養的微生物數量之影響：取 10 g 新鮮土壤樣品，加入裝有 95 mL 無菌水的 250 mL 三角瓶中，以雙層鋁箔紙封口，置於 26℃震盪器中，轉數 200 rpm，震盪 1 h（土壤溶液稀釋度為 10^{-1}）。用手激烈搖晃三角瓶後，在尚未沉澱前，取 1 mL 土壤溶液，加入裝有 9 mL 無菌水的螺旋玻璃試管中，此時螺旋玻璃試管中土壤溶液稀釋度為 10^{-2}。重複上述步驟，取得螺旋試管中土壤溶液稀釋度依序為 10^{-3}、10^{-4}、10^{-5} 與 10^{-6}。培養基中加入約 20 個直徑 3 mm 玻璃珠，依序取適當稀釋度之溶液 100 μL，分別加入細菌、真菌、放線菌、游離性固氮菌及溶磷菌之選擇性培養基中，充分搖動培養基上的玻璃珠，以塗盤均勻。將培養基中之玻璃珠集中、倒出，再以 3M 透氣膠帶封口。培養皿倒放置於 26℃恆溫培養箱中黑暗培養，於第 3 天、第 7 天及第 14 天觀察記錄微生物菌落數。

生物炭施用對顯微鏡直接觀察的土壤微生物數量之影響：秤取 50 g 過篩(篩網孔徑 2 mm)之土壤樣品至燒杯中。以強勢水流沖洗，靜置 20 s 後將上層溶液倒入篩網內，此步驟反覆沖洗三次。上層液倒入的篩網為三層不同網目的篩網組成，篩網孔徑由上至下依序為 60、250 及 500 mesh。將 60 mesh 篩網上的濾篩物洗入燒杯中備用。將 250 及 500 mesh 篩網上的濾篩物洗入離心管中，並用去離子水將所有離心管調至等重。以 1,200×*g* 離心 3 min 後，倒棄上清液。在離心管中加入 40% 糖液，與沉澱物混合均勻後，用糖液將所有離心管調至等重。以 1,200×*g* 離心 2 min，並將上層溶液倒入 500 mesh 篩網內。用水洗下濾篩物，與上述中的 60 mesh 篩網濾篩物一同至顯微鏡下進行觀察。在顯微鏡下計數叢枝菌根菌孢子、線蟲及子囊菌數量，以挑針集中顯微鏡下的叢枝菌根菌孢子，用微量吸管吸取所有的孢

子，把孢子置於載玻片上，加入 Polyvinyl-Lacto-Glycerol (PVLG) 與 Melzer's Reagent 體積比 1：1 之混合染劑染色後，蓋上蓋玻片，在顯微鏡下鑑定叢枝菌根菌菌種名稱。

結果與討論

生物炭理化性質分析：試驗用三種生物炭之理化性質分析結果如表 1，由表 1 可知，木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭之 pH 值依序為 10.5、7.7、10.9，EC 值依序為 5.5、1.7、0.7 mS cm^{-1}，碳含量依序為 50.8%、45.2%、0.69%，氮含量依序為 1.4%、0.6%、0.01%，磷含量依序為 0.35%、0.1%、0.14%，鉀含量依序為 2.9%、1.3%、1.0%，鈣含量依序為 2.38%、0.22%、0.16%，鎂含量依序為 4910、919、625 mg kg^{-1}，鈉含量依序為 666、304、185 mg kg^{-1}。木炭除了錳含量與鉻含量外，其他的元素含量皆為三種生物炭中最高者，而稻殼灰炭大部分的營養元素含量較少。三種生物炭之八種重金屬(銅、鋅、鎘、鉻、鎳、鉛、砷、汞)含量皆不高，皆未超過農糧署固態有機質肥料有害成分上限規定。木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭之 C/N 比依序為 36，76、53。

表 1. 試驗用生物炭理化性質分析
Table 1. Physical-chemical property analysis of biochars

生物炭種類	pH ^{z} (1：5)	EC ^{z} (mS cm^{-1})	C ^{y} (%)	N ^{y} (%)	C/N	P ^{y} (%)	K ^{y} (%)	Ca ^{y} (%)	Mg ^{y} (mg kg^{-1})	Na ^{y} (mg kg^{-1})
木炭	10.5	5.5	50.8	1.4	36	0.35	2.9	2.38	4910	666
稻殼燻炭	7.7	1.7	45.2	0.6	76	0.10	1.3	0.22	919	304
稻殼灰炭	10.9	0.7	0.69	0.01	53	0.14	1.0	0.16	625	185

^{z} pH與電導度(EC)測定時，生物炭與水分比率為重量比1:5。
^{y} 生物炭中元素之總含量。

表 1. 試驗用生物炭理化性質分析 (續)
Table 1. Physical-chemical property analysis of biochars (cont'd) Unit：mg kg^{-1}

生物炭種類	Fe ^{y}	Mn ^{y}	As ^{y}	Cd ^{y}	Cr ^{y}	Cu ^{y}	Hg ^{y}	Ni ^{y}	Pb ^{y}	Zn ^{y}
木炭	97	120	2.4	0.089	12	24	0.010	9	6.8	58
稻殼燻炭	96	193	1.0	0.086	8	5	< 0.002	3	0.3	42
稻殼灰炭	91	87	1.2	0.005	30	7	< 0.002	4	0.2	18

^{y} 生物炭中元素之總含量。

土壤理化性質分析：蘿蔓萵苣種植前之土壤理化性質分析如表 2，由表 2 可知，試驗田土壤所有處理之表土與底土質地皆為砂質壤土。施用木炭可顯著提高表土與底土 pH 值及有效性鉀含量，但顯著降低表土與底土有效性銅含量，而對有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、硼及鋅含量影響不顯著。

表 2. 蘿蔓萵苣種植前試驗田土壤理化性質分析
Table 2. Analysis of physical-chemical property of field soil prior experiment

處理	土壤深度 (cm)	pH (1：1)	EC(1:5) ($\mu S\ cm^{-1}$)	質地	OM ($g\ kg^{-1}$)	N ($mg\ kg^{-1}$)	P ($mg\ kg^{-1}$)	K ($mg\ kg^{-1}$)
對照組	0-20	7.7 bc [z]	245 a	SL	29.3 a	47 a	157 a	153 b
木炭	0-20	8.2 a	341 a	SL	17.2 a	62 a	138 a	538 a
稻殼燻炭	0-20	7.9 ab	363 a	SL	36.4 a	36 a	187 a	393 a
稻殼灰炭	0-20	8.1 a	281 a	SL	29.7 a	25 a	178 a	435 a
對照組	20-40	7.5 c	198 a	SL	28.1 a	41 a	136 a	121 b
木炭	20-40	8.2 a	306 a	SL	20.9 a	45 a	129 a	533 a
稻殼燻炭	20-40	7.7 bc	217 a	SL	37.3 a	26 a	147 a	357 a
稻殼灰炭	20-40	7.9 ab	211 a	SL	32.4 a	20 a	136 a	392 a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 2. 蘿蔓萵苣種植前試驗土壤理化性質分析（續）
Table 2. Analysis of physical-chemical property of field soil prior experiment (cont'd)

處理	土壤深度 (cm)	Ca ($mg\ kg^{-1}$)	Mg ($mg\ kg^{-1}$)	Fe ($mg\ kg^{-1}$)	Mn ($mg\ kg^{-1}$)	B ($mg\ kg^{-1}$)	Cu ($mg\ kg^{-1}$)	Zn ($mg\ kg^{-1}$)
對照組	0-20	3005 a [z]	204 a	331 ab	112 a	1.1 a	39 a	12 a
木炭	0-20	2962 a	225 a	249 b	117 a	1.2 a	6 c	17 a
稻殼燻炭	0-20	3904 a	304 a	326 ab	113 a	1.8 a	24 abc	20 a
稻殼灰炭	0-20	3623 a	316 a	371 a	117 a	1.7 a	18 bc	12 a
對照組	20-40	2850 a	186 a	336 ab	117 a	1.1 a	28 ab	11 a
木炭	20-40	3052 a	220 a	248 b	123 a	1.3 a	6 c	16 a
稻殼燻炭	20-40	3811 a	231 a	359 a	107 a	1.4 a	12 bc	14 a
稻殼灰炭	20-40	2948 a	230 a	414 a	133 a	1.3 a	10 bc	10 a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

施用稻殼燻炭可顯著提高表土與底土有效性鉀含量，而對表土與底土 pH 值、有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅及硼含量影響不顯著。施用稻殼灰炭可顯著提高表土與底土 pH 值及有效性鉀含量，但顯著降低表土有效性銅含量，而對表土與底土有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅及硼含量影響不顯著。蘿蔓萵苣採收後之土壤理化性質分析如表 3，由表 3 可知，木炭施用可顯著提高表土與底土 pH 值及有效性鉀含量，但顯著降低

表 3. 蘿蔓萵苣採收後試驗土壤理化性質分析
Table 3. Analysis of physical-chemical property of field soil after the harvest of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	pH (1：1)	EC (1:5) (μS cm^{-1})	OM (g kg^{-1})	N (mg kg^{-1})	P (mg kg^{-1})	K (mg kg^{-1})
對照組	0-20	7.6 bc [z]	232 ab	32 ab	47 a	171 bc	114 cd
木炭	0-20	8.0 a	353 ab	28 ab	35 a	128 c	475 a
稻殼燻炭	0-20	7.8 abc	222 ab	45 a	41 a	276 b	228 bc
稻殼灰炭	0-20	7.8 abc	245 ab	35 ab	38 a	164 bc	300 b
對照組	20-40	7.5 c	160 b	21 b	33 a	99 c	83 d
木炭	20-40	7.9 ab	282 ab	29 ab	53 a	146 bc	311 b
稻殼燻炭	20-40	7.8 abc	391 a	36 ab	31 a	439 a	229 bc
稻殼灰炭	20-40	7.7 abc	185 ab	27 b	21 a	94 c	204 bc

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 3. 蘿蔓萵苣採收後試驗土壤理化性質分析 (續)
Table 3. Analysis of physical-chemical property of field soil after the harvest of Romaine lettuce (cont'd)

處理	土壤深度 (cm)	Ca (mg kg^{-1})	Mg (mg kg^{-1})	Fe (mg kg^{-1})	Mn (mg kg^{-1})	B (mg kg^{-1})	Cu (mg kg^{-1})	Zn (mg kg^{-1})
對照組	0-20	3023 ab [z]	215 abc	325 b	115 cd	1.3 ab	76 a	16 abc
木炭	0-20	3537 ab	283 ab	226 c	119 bcd	1.6 ab	8 b	21 ab
稻殼燻炭	0-20	4111 a	293 a	343 ab	118 bcd	2.2 a	35 b	26 a
稻殼灰炭	0-20	3439 ab	286 ab	373 ab	132 bc	1.8 ab	33 b	13 bc
對照組	20-40	2261 b	143 c	310 bc	138 ab	0.7 b	26 b	9 c
木炭	20-40	3229 ab	232 abc	290 bc	117 bcd	1.8 ab	7 b	15 abc
稻殼燻炭	20-40	4055 a	213 abc	417 a	105 d	1.5 ab	23 b	23 ab
稻殼灰炭	20-40	2568 b	190 bc	370 ab	159 a	1.0 b	15 b	9 c

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表土有效性鐵與銅含量，而對有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、錳、硼、鋅含量影響不顯著。稻殼燻炭可顯著提高底土 EC 值、有效性磷、鉀、鈣、鐵、鋅含量，但顯著降低表土有效性銅含量與底土有效性錳含量，而對表土與底土 pH 值、無機態氮含量、有效性鎂、硼含量影響不顯著。稻殼灰炭施用可顯著提高表土與底土有效性鉀含量，但顯著降低表土有效性銅含量，而對表土與底土 pH 值、有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、鋅及硼含量影響不顯著。

蘿蔓萵苣產量調查：蘿蔓萵苣定植 35 d 後採收並調查產量。採收時調查每畦蘿蔓萵苣鮮重，調查結果如表 4 所示，由表 4 可知，施用木炭可增加蘿蔓萵苣產量 24%，而施用稻穀燻炭與稻穀炭灰會降低蘿蔓萵苣產量，分別降低 29%與 60%。蘿蔓萵苣的產量與蘿蔓萵苣種植前表土無機態氮含量最有直接的關係，蘿蔓萵苣種植前三種生物炭表土土壤中無機態氮含量依序為 47、62、36、25 mg kg^{-1}(如表 2)，蘿蔓萵苣的產量與蘿蔓萵苣種植前表土無機態氮含量相關係數(r)＝0.99，達顯著相關($P<0.05$)。木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭的總氮含量依序為 1.4%、0.6%、0.01%，木炭中含有較高的總氮含量，且木炭的 C/N 比 32 不高，由木炭分解所釋出的氮肥可提供蘿蔓萵苣生長所需，故施用木炭可增加蘿蔓萵苣生長。而稻殼燻炭與稻殼灰炭的總氮含量較低，且其 C/N 比較高，依序為 76、53，這兩種生物炭分解時需要再外加氮肥才能順利分解，所以會與蘿蔓萵苣競爭氮肥，造成蘿蔓萵苣產量下降。

生物炭施用對土壤微生物 DNA 總量、碳源利用率及微生物多樣性之影響：蘿蔓萵苣種植前，施用木炭可顯著降低表土與底土土壤 DNA 含量，而施用稻殼灰炭

表 4. 不同種類生物炭施用對蘿蔓萵苣產量之影響

Table 4. Influence of various biochar application on the crop yield of Romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*)

處理	蘿蔓萵苣鮮重 (Kg / 0.1 ha)	相對生長量 (%)
對照組	3324 ± 1919	100
木炭	4124 ± 2381	124
稻穀燻炭	2343 ± 1353	71
稻穀炭灰	1332 ± 769	40

可顯著提高表土 DNA 含量(表 5)。在蘿蔓萵苣採收後，施用木炭與稻殼燻炭皆可顯著降低表土 DNA 含量，而施用稻殼燻炭與稻殼灰炭可顯著降低底土 DNA 含量(表 5)。在大部分的研究中，生物炭的添加可增加微生物生物量(biomass)，而本文中施用木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭皆會降低土壤 DNA 含量，這可能因本文中的試驗土壤為中性到微鹼性土壤(pH 值 7.5–7.7)，而施用強鹼性的木炭(pH 值 10.5)、稻殼灰炭(pH 值 10.9)及 C/N 比高的稻殼燻炭(C/N＝76)，不利多數的微生物生長而使土壤 DNA 含量降低。

在蘿蔓萵苣種植前，施用稻殼燻碳可顯著提高表土土壤微生物碳源的利用率，而在蘿蔓萵苣採收後，木炭施用可顯著提高底土土壤微生物碳源的利用率(表 6)。在蘿蔓萵苣種植前與採收後，三種生物炭對表土與底土土壤微生物多樣性皆無顯著影響(表 6)。土壤生物多樣性是土壤品質的一個指標，有較高物種多樣性的土壤，在養分循環，有機物同化及土壤結構維持等方面的土壤穩定性較高。有機質是大多數土壤生物的能量、營養和棲息地的主要來源，具有高有機質含量的土壤能夠支持更大的植被多樣性，進而增加有機質含量和有機碳含量，同時增強土壤生物多樣性。本文中三種生物炭對試驗土壤的有機質含量影響不大，故使三種生物炭施用對土壤微生物多樣性皆無顯著影響。

生物炭施用對可培養的微生物數量之影響：在蘿蔓萵苣種植前，施用木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭皆可顯著降低表土土壤總細菌數及游離性固氮菌數 (表 7)，而

表 5. 蘿蔓萵苣種植前後土壤 DNA 含量變化
Table 5. The changes of soil DNA content prior- and post-growth of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	種植前土壤 DNA 含量 (µg/ 1g dry soil)	種植後土壤 DNA 含量 (µg/ 1g dry soil)
對照組	0-20	12.5 ± 2.3 b	16.0 ± 1.4 a
木炭	0-20	8.3 ± 0.4 c	8.4 ± 1.3 d
稻殼燻炭	0-20	13.5 ± 1.0 b	11.9 ± 0.7 b
稻殼灰炭	0-20	16.8 ± 2.7 a	14.3 ± 0.9 a
對照組	20-40	12.3 ± 1.6 b	11.3 ± 0.3 b
木炭	20-40	9.0 ± 0.8 c	10.5 ± 0.3 bc
稻殼燻炭	20-40	14.4 ± 1.0 ab	9.6 ± 1.1 cd
稻殼灰炭	20-40	14.4 ± 2.3 ab	9.7 ± 1.1 cd

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s protected LSD test.

施用木炭與稻殼灰炭可顯著降低表土總溶磷菌數，各處理之總放線菌數與總真菌數無顯著差異。在蘿蔓萵苣採收後，施用木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭皆可顯著提高表土總真菌數 (表 8)，而施用木炭亦可顯著提高底土總真菌數，但顯著降低表土游離性固氮菌數及底土游離性固氮菌數。施用稻殼灰炭可顯著降低表土總放線菌數，及顯著降低表土與底土之游離性固氮菌數及總溶磷菌數。

表 6. 生物炭施用與蘿蔓萵苣種植對土壤微生物碳源利用率及多樣性之影響

Table 6. The influence of biochar application and the growth of Romaine lettuce on the utilization rate of carbon sources and the biodiversity of soil microbes

處理	土壤深度	蘿蔓萵苣移植前		蘿蔓萵苣採收後	
		AWCD [z]	H index [y]	AWCD [z]	H index [y]
對照組	0-20	0.48 b [x]	2.88 a	0.40 abc	2.82 a
木炭	0-20	0.46 b	2.96 a	0.41 abc	2.85 a
稻殼燻炭	0-20	0.73 a	3.13 a	0.43 ab	2.84 a
稻殼灰炭	0-20	0.38 a	2.72 a	0.36 bc	2.77 a
對照組	20-40	0.33 b	2.61 a	0.29 bc	2.56 a
木炭	20-40	0.50 ab	2.82 a	0.55 a	3.04 a
稻殼燻炭	20-40	0.51 ab	2.92 a	0.34 bc	2.76 a
稻殼灰炭	20-40	0.43 b	2.87 a	0.27 c	2.43 a

[z] Ecoplate™培養72小時，AWCD (Average well color development) =$\Sigma ODi/31$，$ODi = OD_{590}-OD_{750}$

[y] Ecoplate™培養72小時，H-index (Shannon diversity index) = $-\Sigma\ pi(\ln pi)$，$pi = ODi/\Sigma ODi$

[x] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 7. 在蘿蔓萵苣種植前生物炭施用對可培養微生物數量之影響

Table 7. The influence of biochar application on the changes of culturable microbe quantity before the planting of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	總細菌數 Log (cfu/g soil)	總放線菌數 log (cfu/g soil)	總真菌數 Log (cfu/g soil)	總游離固氮菌數 Log (cfu/g soil)	總溶磷菌數 Log (cfu/g soil)
對照組	0-20	8.3 a [z]	6.3 a	4.7 a	8.9 a	6.7 a
木炭	0-20	7.5 c	6.6 a	4.8 a	7.7 c	6.1 b
稻殼燻炭	0-20	7.4 c	6.2 a	4.6 a	7.7 c	6.5 a
稻殼灰炭	0-20	7.8 b	6.2 a	4.8 a	8.0 b	6.1 b
對照組	20-40	7.6 bc	6.6 a	4.7 a	8.0 b	6.5 a
木炭	20-40	7.4 c	6.5 a	4.6 a	7.7c	6.7 a
稻殼燻炭	20-40	7.5 c	6.5 a	4.7 a	7.8 bc	6.5 a
稻殼灰炭	20-40	7.4 c	6.3 a	4.5 a	7.6 c	6.7 a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

生物炭施用對顯微鏡直接觀察的土壤微生物數量之影響：在蘿蔓萵苣種植前生物炭施用後對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響如表 9，由表 9 中可知，施用木炭可顯著提高表土線蟲數量，但會顯著降低底土子囊菌的數量。施用稻殼燻炭可顯著提高底土線蟲數量及顯著提高表土子囊菌的數量。而施用稻殼灰炭可顯著提高底土叢枝菌根菌數量及顯著提高表土子囊菌的數量。在蘿蔓萵苣採收後生物炭施用對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響如表 10，由表 10 中可知，三種生物炭施用對表土與底土之叢枝菌根菌數量及線蟲數量無顯著影響。施用稻殼燻炭與稻殼灰炭可顯著提高表土子囊菌的數量。試驗土壤

表 8. 蘿蔓萵苣採收後生物炭施用對可培養微生物數量之影響
Table 8. The influence of biochar application on the changes of culturable microbe quantity after the harvest of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	總細菌數 Log (cfu/g soil)	總放線菌數 Log (cfu/g soil)	總真菌數 Log (cfu/g soil)	總游離固氮菌數 Log (cfu/g soil)	總溶磷菌數 Log (cfu/g soil)
對照組	0-20	7.1 ab [z]	7.1 a	4.5 b	7.6 ab	6.8 a
木炭	0-20	7.2 a	6.9 a	4.8 a	7.0 c	7.0 a
稻殼燻炭	0-20	7.1 ab	7.0 a	4.9 a	7.8 a	6.8 a
稻殼灰炭	0-20	7.1 ab	6.5 b	4.8 a	7.0 c	6.2 c
對照組	20-40	6.9 b	6.6 b	4.5 b	7.7 ab	7.0 a
木炭	20-40	7.1 ab	6.8 ab	4.9 a	7.5 b	6.5 b
稻殼燻炭	20-40	6.9 b	6.6 b	4.4 b	7.8 a	6.7 ab
稻殼灰炭	20-40	6.9 b	6.7 ab	4.7 ab	6.8 c	6.2 c

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 9. 在蘿蔓萵苣種植前生物炭施用對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響
Table 9. The influence of biochar application on the populations of arbuscular mycorrhizal fungi, nematodes and ascomycetes before the planting of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	叢枝菌根菌 (spore/100g fresh soil)	線蟲 (spore/100g fresh soil)	子囊菌 (spore/100g fresh soil)
對照組	0-20	15 b [z]	21 bc	279 bc
木炭	0-20	9 b	57 a	173 c
稻殼燻炭	0-20	19 b	47 ab	583 a
稻殼灰炭	0-20	8 b	21 bc	537 a
對照組	20-40	24 b	20 bc	252 bc
木炭	20-40	4 b	23 bc	65 c
稻殼燻炭	20-40	14 b	62 a	433 ab
稻殼灰炭	20-40	91 a	17 c	459 ab

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

中出現的叢枝菌根菌菌種有 *Rhizophagus intraradices* (Fig.1A)、*Acaulospora scrobiculata* (Fig.1B)、*Claroideoglomus etunicatum* (Fig.1C) 及 *Funneliformis mosseae* (Fig.1D)。

表 10. 蘿蔓萵苣採收後生物炭施用對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響
Table 10. The influence of biochar application on the populations of arbuscular mycorrhizal fungi, nematodes and ascomycetes after the harvest of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	叢枝菌根菌 (spore/100g fresh soil)	線蟲 (spore/100g fresh soil)	子囊菌 (spore/100g fresh soil)
對照組	0-20	15 a [z]	192 a	288 c
木炭	0-20	9 a	73 a	217 c
稻殼燻炭	0-20	13 a	74 a	405 b
稻殼灰炭	0-20	32 a	153 a	648 a
對照組	20-40	18 a	17 a	117 c
木炭	20-40	11 a	80 a	175 c
稻殼燻炭	20-40	19 a	345 a	200 c
稻殼灰炭	20-40	44 a	101 a	231 c

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s protected LSD test.

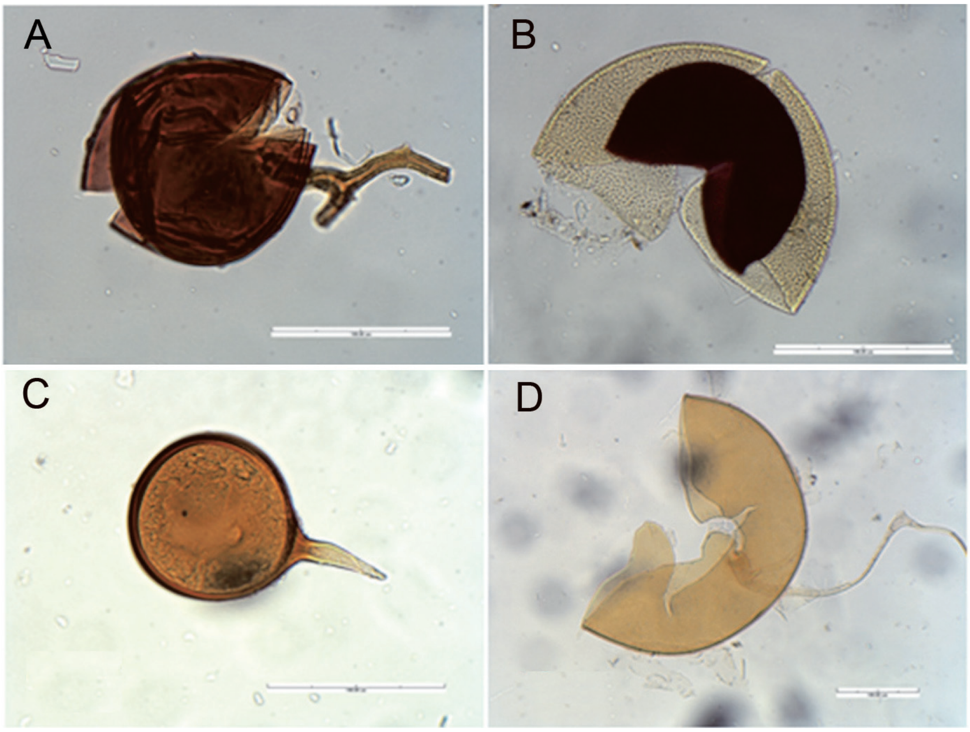

圖 1. 試驗土壤中出現的叢枝菌根菌菌種有 *Rhizophagus intraradices* (A)；*Acaulospora scrobiculata* (B)；*Claroideoglomus etunicatum* (C) 及 *Funneliformis mosseae* (D)。

引用文獻

1. Biederman, L.A. and W.S. Harpole. 2013. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: A Meta-Analysis. GCB Bioenergy 5：202-214.
2. Busscher, W.J., J. M. Novak, M. Ahmedna. 2011. Physical effects of organic matter amendment of a southeastern US coastal loamy sand. Soil Sci. 176：661–667.
3. Deenik, J.L., T. McClellan, G. Uehara, M. J. Antal, and S. Campbell. 2010. Charcoal volatile matter content influences plant growth and soil nitrogen transformations. Soil Sci. Soc. Am. J. 74：1259–1270.
4. Insam, H. 1997. A new set of substrates proposed for community characterization in environmental samples *In*: Insam H, Rangger A (eds) Microbial Community. Springer-Verlag, Berlin. pp. 259–260.
5. Insam, H., and M. Goberna. 2004. Use of Biolog for the community level physiological profiling (CLPP) of environmental samples. p.853-860. In G. A. de Bruijn, F. Head, I. M. Van der Zijpp and A. J. van Elsas (eds.) MolecμLar Microbial Ecology Manual. 2nd ed. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
6. Kelly, C.N., F. C. Calderon, V. Acosta-Martinez, M. M. Mikha, J. Benjamin, D. W. Rutherford, and C. E. Rostad. 2015. Switchgrass biochar effects on plant biomass and microbial dynamics in two soils from different regions. Pedosphere 25：329–342.
7. Lehmann, J., M. Rillig, J. Thies, C. A. Masiello, W. C. Hockaday, and D. Crowley. 2011. Biochar effects on soil biota—a review. Soil Biol. Biochem. 43:1812–1836.
8. Liao, N., Q. Li, W. Zhang, G. Zhou, L. Ma, W. Min, J. Ye, and Z. Hou. 2016. Effects of biochar on soil microbial community composition and activity in drip-irrigated desert soil. European Soil Biol. 72：27–34.
9. Wang, G. H., J. Jin, X. L. Chen, J. D. Liu, X. B. Liu, and S. J. Herbert. 2007. Biomass and catabolic diversity of microbial communities with long-term restoration, bare fallow and cropping history in Chinese Mollisols. Plant Soil Eviron. 53:177-185.

The Influence of Biochar Amendment on the Growth of Romaine Lettuce, the Soil Physical-Chemical Properties and Microbial Flora

Su-Chen Lin[1,*], Shen-Chyu Peng[2], Zi-Jun Lin [3], and Yao-Tsung Chang [4]

Summary

Biochar has been used nationwide as soil amendment; even though there is still some negative effect to the crop growth reported. In this paper, the influence of biochar amendment to the growth of romaine lettuce was explored in terms of soil physical-chemical properties and composition of microbial flora as well as biodiversity. The experiment was conducted in March 2018. Experiment site was located in Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station (KDARES). The test plant was romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*). The biochar included charcoal, carbonized rice husk and rice husk ash. Field trial plots were designed and managed by KDARES. Biochar was incorporated 20 tons per hectare. Soil samples were collected before planting and after harvest separately for the related analyses. The test results indicated that (i) charcoal amendment could increase crop yield 24%; carbonized rice husk and rice husk ash decrease crop yield 29% and 60% respectively, (ii) charcoal and rice husk ash could enhance soil pH, (iii) all of tested biochar could increase soil available potassium, (iv) charcoal amendment could significantly lower the

[*] Corresponding author, e-mail: linmay@tari.gov.tw

[1] Assistant Researcher, AgricμLtural Chemistry Division, Taiwan AgricμLture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[2] Research Assistant, AgricμLtural Chemistry Division, Taiwan AgricμLture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[3] Research Assistant, AgricμLtural Chemistry Division, Taiwan AgricμLture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[4] Associate Researcher, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Pingtung, Taiwan, ROC.

quantity of available irons and coppers, (v) all of tested biochar could lower the DNA quantity in soil, (vi) charcoal amendment could enhance significantly microbial carbon utilization rate in subsoil, (vii) all of biochar amendment could lower total bacterial, free-living nitrogen fixing bacterial and phosphate-solubilizing bacterial counts, (viii) amendment of carbonized rice husk and rice husk ash could promote the quantity of ascomycetes.

Key words: Biochar, *Lactuca sativa*, Romaine lettuce, Soil physical-chemical Properties, Biodiversity.